
Einleitung

Aufbau und Funktion der Myofibrille

Der prinzipielle Aufbau von Myofibrillen ist durch die regelmässige Anordnung von dicken und dünnen Filamenten bestimmt. Das dicke Filament besteht grösstenteils aus dem Myosin, welches den strukturellen Hauptanteil des kontraktiven Apparates bildet. Als Enzym, das chemische Energie in Form von ATP in mechanische Arbeit - die Muskelkontraktion - umwandelt, hat es eine grosse Bedeutung für die Kontraktibilität aller Muskelfasern.

Das Myosinmolekül des Herzens besteht aus zwei schweren Myosinketten mit je 200 kDa, zwei phosphorylierbaren und zwei nicht phosphorylierbaren, alkali-leichten Ketten, die auch als "essentielle" leichte Ketten bezeichnet werden.

Das dünne (= Actin-) Filament besteht aus dem F-Actin, dem Tropomyosin (TM) und den Untereinheiten des Troponins - TnT, TnI und TnC. Troponin C besitzt die Bindungsstellen für die Kontraktionsinitiation benötigten Ca^{2+} -Ionen.

Bei der Auslösung der Kontraktion von quergestreifter Muskulatur laufen folgende Prozesse ab: Die Muskelzelle wird depolarisiert und Ionenkanäle für Ca^{2+} öffnen sich; das einströmende Ca^{2+} bewirkt eine Öffnung von Ca^{2+} - Kanälen am sarkoplasmatischen Retikulum (SR) und der Ca^{2+} -Spiegel steigt; das Ca^{2+} bindet an Troponin C; eine Konformationsänderung von Troponin verschiebt Tropomyosin; Myosin-Köpfchen binden an Aktin; der Aktin-Myosin-Zyklus läuft ab; die Muskelfaser verkürzt sich (Übersicht Solaro, 1995).

Bei der Beendigung der Kontraktion sinkt der Ca^{2+} -Spiegel durch Rücktransport ins SR; Troponin C verliert Ca^{2+} ; Tropomyosin kehrt an seinen Platz am Aktin zurück und blockiert den Aktin-Myosin-Zyklus: der Muskel erschlafft.

Das Myosinmolekül

Im Herzmuskel werden zwei verschiedene Isoformen der schweren Myosinkette (α und β) exprimiert. Die Gene dieser kardialen Myosinisoformen liegen bei Mensch, Maus und Ratte auf Chromosom 14, wo sie mit 4 Kilobasen Abstand voneinander angeordnet sind (Leinwand et al., 1983). Trotz ihrer nur geringen Unterschiede in der Aminosäuresequenz unterscheiden sich die ventrikulären MyHC-Isoenzyme sowohl in ihren biochemischen, mechanischen als auch energetischen Eigenschaften erheblich.

Die ATPase-Aktivität und die Verkürzungsgeschwindigkeit von α -MyHC ist deutlich höher als von β -MyHC, jedoch wird die bessere Kontraktibilität von α -MyHC durch einen höheren

Sauerstoffverbrauch und eine erhöhte „Tension Cost“ (das Verhältnis von ATPase und isometrischer Spannung einer steady-state-Kontraktion) erkaufte.

Das MyHC-Isoenzymmuster kann durch vielfältige Faktoren modifiziert werden. So verändert es sich im Verlauf der ontogenetischen Entwicklung, durch hormonelle Einflüsse und durch eine vermehrte hämodynamische Belastung. Während im embryonalen und fetalen Rattenventrikel ausschliesslich β -MyHC exprimiert wird, findet man im Alter von 4 Wochen vorwiegend α -MyHC (Lompre et al., 1984). Unter dem Einfluss verschiedener Hypertrophie-Stimuli kommt es - auf Kosten von α -MyHC - zu einer vermehrten Expression von β -MyHC (Lompre et al., 1979). Da diese Stimuli (z.B. Agonisten des α 1-adrenergen Rezeptors, des Angiotensin-1-Rezeptors, Druck- und Volumenbelastung) als pathophysiologische Faktoren der Herzinsuffizienz bekannt sind, ist die vermehrte β -MyHC-Expression nicht nur der bekannteste molekulare Hypertrophie-Marker, sondern auch bei den Herzinsuffizienz-Tier-Modellen eine wichtige Veränderung im Bereich der kontraktilen Proteine.

Im Gegensatz dazu ist im Humanherz die MyHC-Protein-Expression in geringerem Ausmass reguliert. Im Ventrikel wird nahezu ausschliesslich β -MyHC exprimiert, im Vorhof α -MyHC (Mercadier, 1983). Dieses Muster bleibt während der Ontogenese unverändert. Einige Autoren berichten über einen geringen Anteil von α -MyHC auf mRNA-Ebene (Nakao et al., 1997) und eine Verminderung dieses Anteils im Rahmen der Herzinsuffizienz und Herzhypertrophie (Miyata et al., 2000).

Troponin I (TnI)

TnI ist Teil des heterotrimeren Troponin-Komplexes und spielt eine entscheidende Rolle bei der Aktin-Myosin-Interaktion indem es die Konformation des Tropomyosin-Komplexes reguliert. Die Phosphorylierung durch die cAMP-abhängige Proteinkinase A bewirkt eine Zunahme der Muskelschlaffung indem die Ca^{2+} - Affinität des TnC signifikant reduziert wird (Holroyde et al., 1980). Eine Verminderung von TnI, z.B. in einem Infarktmodell (Westfall et al., 1992) oder bei einer Knock-out-Maus (Huang et al., 1999), führte zu tiefgreifenden Änderungen mit signifikanter Minderung der kontraktilen Eigenschaften des Herzmuskels. Es existieren drei Isoformen, die Produkte von drei verschiedenen Genen sind. Sie bestehen aus jeweils einer Isoform für langsame und schnelle Skelettmuskelfasern sowie einer für den Herzmuskel. Im Rattenherz konnte gezeigt werden, dass der TnI-mRNA Level der Skelettmuskel-Isoform während der Entwicklung sinkt, während der kardialen Isoform ansteigt (Murphy et al., 1991). Es wurde vermutet, dass diese Änderung der TnI-Expression während der Entwicklung für die unterschiedliche β -adrenerge Stimulierbarkeit des adulten und neonatalen Rattenherzens verantwortlich sein könnte (Ausoni et al., 1991). Im menschlichen Herz kommt es zu einem ähnlichen Isoform-Switch während der Ontogenese,

während im Rahmen der Herzinsuffizienz keine Isoform-Änderung festgestellt werden konnte (Sasse et al., 1993). Die Transkription-Regulation durch eine Reihe cis-regulierender DNA-Elemente wurde beschrieben (Di Lisi et al., 1998).

Endogene Antisense-RNA regulieren die Genexpression

Die Expression endogener (oder auch: natürliche) Antisense-RNA ist für eine ganze Reihe von Genen eukaryoter Zellen beschrieben worden (Überblick Vanhée-Brossollet und Vaquero, 1998). Es handelt sich hierbei nicht um Produkte einer fehlerhaften Transkription sondern, stellt ein bedeutendes Regulationsprinzip dar. So konnte nachgewiesen werden, dass der Basic Fibroblast Growth Factor (bFGF) durch einen zwanzigfachen Überschuss von Antisense- gegenüber Sense-mRNA in *Xenopus* Oozyten reguliert wird (Kimelmann und Kirschner 1989). Auch in menschlichen Gliazellen liess sich natürliche Antisense-RNA für den bFGF nachweisen (Murphy und Knee, 1994). Für die Wirkungsweise von Antisense-RNA sind eine ganze Reihe von Mechanismen beschrieben worden (Übersicht Simons, 1994): Hybridisierung, Ribosomen-Bindung, Transkriptions-Terminierung, Beeinflussung der Sense-mRNA-Stabilität. Im allgemeinen wurde der Effekt von endogener Antisense-RNA als identisch mit der von Antisense Oligonukleotiden eingeschätzt: Diese binden zunächst an der komplementären Sequenz der Ziel-mRNA. Anschliessend kommt es zu Prozessierung durch Nukleasen oder die Translation wird sterisch behindert (Sharma et al., 1995). Diese Wirkung konnte auch für natürliche Antisense-RNA zunächst in Prokaryonten (Übersicht Wagner and Simons, 1994) und später in *Dictyostelium* (Hildebrandt und Nellen, 1992) gezeigt werden. In Eukaryonten sind mehrere Enzyme beschrieben, die doppelsträngige RNA prozessieren: Protein Kinase R (PKR) (Proud, 1995), die 2-5A Synthetase (Kerr and Brown, 1987) und eine RNase III (Wu et al., 2000). Endogene Antisense-RNA in Form kleiner RNA-Moleküle (small interfering RNA, siRNA, 21-25 Nukleotide) ist in Pflanzen, Würmern und Fliegen nachgewiesen worden. Dabei interagieren siRNAs mit dem so genannten RISC-Faktor, welches schliesslich zur Interaktion des kurzen Antisense-Stranges mit dem mRNA-Transkript führt. Dieser Duplex wird anschliessend von einer Nuklease prozessiert (Übersicht in Fire, 1999). Ob dieser hocheffiziente Mechanismus auch in höheren Organismen wirksam ist, ist bisher ungeklärt.